Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität
im Universitäts-Krankenhaus-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. K e e s e r

Der Nachweis sedativer Wirkung im Tierversuch

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Hansischen Universität
Hamburg

vorgelegt von

HANS HEINKEN
Zahnarzt

Hamburg 1938

1. Berichterstatter: Dozent Dr. Oelkers

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Keeser

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Hansischen Universität

Druck: A. Preilipper, Hamburg 11, Admiralitätstr. 16 / Fernruf 36 50 89

Die Prüfung von Beruhigungsmitteln am Tier stößt auf Schwierigkeiten, und auch bei Versuchen am Menschen ist eine sedative Wirkung nur schwer zu beurteilen (*Schlaginweit*[1]). Da indessen sehr viele Pharmaka im Handel sind, von denen eine beruhigende Wirkung angegeben wird, so schien es interessant, sich nach tierexperimentellen Methoden umzusehen, die die exakte Feststellung einer sedativen Wirkung ermöglichen könnten. Den verschiedenen Versuchsanordnungen, die zur Feststellung dieser Wirkung im Laufe der Zeit empfohlen wurden, haftet der Fehler an, daß das Versuchstier mehr oder weniger in seiner spontanen Beweglichkeit gehemmt ist. So benutzte z. B. *Schlaginweit*[1] einen Käfig aus Aluminiumblech von 7 cm Kantenlänge, der an vier Spiralen federnd aufgehängt ist und jede Bewegung des Versuchstieres (Maus) mittels einer Schreibfahne auf eine rotierende Trommel überträgt. Hierzu ist jedoch zu bemerken, daß eben durch die Kleinheit des Käfigs, in dem sich die Maus befindet, diese in ihrer spontanen Beweglichkeit stark behindert ist und sich darum schon spontan ruhiger verhält, als sie dies unter normalen Umständen tun würde.

Verschiedene Methoden zur Prüfung der sedativen Wirkung im Tierversuch wurden in einer Arbeit von *Fromherz*[2] erwähnt. Hierbei wird insbesondere die Anordnung von Miss Hubbert angeführt, die in dem sogen. Irrgartenapparat besteht. Die Versuchstiere sind in diesem Fall auf einen bestimmten Weg dressiert. Nachdem die Tiere (Mäuse) das zu prüfende Medikament erhalten haben, werden die gemachten Fehler gezählt. Außerdem wird die Zeit, die zur Zurücklegung des Weges gebraucht wird, gemessen. Dieses Verfahren erfordert aber eine ziemlich unhandliche Apparatur und eine besondere Behandlung des Versuchstieres, ohne dabei besondere Vorteile zu bieten.

Ferner wurden Versuche zur Bestimmung sedativer Wirkung gemacht, bei denen man den Farbensinn der Tiere zu Hilfe nahm. Man ließ die Versuchstiere nur bei einer bestimmten Farbe Futter finden, während sie bei einer anderen Farbe einen leichten elektrischen Schlag bekamen. Die Methode hat aber nach *Fromherz*[2] nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt.

Bei Untersuchungen über die Wirkungen des Baldrians prüften *Kochmann* und *Kunz*[3] die sedative Beeinflussung durch Feststellung von Gleichgewichtsstörungen bei den Versuchstieren. Das Verfahren erscheint jedoch zur Begutachtung leichterer Wirkungen als ungeeignet.

---

1 Schlaginweit: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm., Bd. 131, S. 212 (1928).

2 Fromherz: Ebenda, Bd. 121, S. 273 (1927).

3 Kochmann und Kunz: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 181, S. 421 (1936).

Ein sehr einfaches Verfahren hat *Druckrey*[4] beschrieben. Hierbei werden die Bewegungen von Mäusen, die sich in einem Glase von 7 cm Durchmesser befinden, durch einen Faden, der mittels einer Klemme am Ohr der Tiere befestigt wird, auf einen Hebel übertragen.

Druckrey[4] ging dabei von der Annahme aus, daß der Kopf der Maus der am meisten bewegte Teil sei. Es zeigte sich aber bei eigenen Versuchen, daß auch bei unbehandelten Mäusen, die sich in einem kleinen Gefäß befinden, schon spontan nach einiger Zeit Beruhigung und Schlaf eintreten.

In einem gewissen Gegensatz zu den bisher beschriebenen Verfahren steht eine kürzlich von *A. W. Forst*[5] angegebene Methode, die die spontane Beweglichkeit der Tiere praktisch nicht behindert, mit der aber trotzdem bereits geringste Anzeichen einer sedativen Wirkung deutlich registriert werden können.

Die Versuchsmethode besteht darin, daß eine Maus auf eine berußte Papierplatte gesetzt wird, über der sich eine Glasglocke von 25,5 cm Durchmesser befindet. Nach einer halben Stunde hat eine unbehandelte, gesunde Maus, wie eine Anzahl von Kontrollversuchen zeigt, die Platte gleichmäßig belaufen und damit auch den Ruß ziemlich gleichförmig entfernt. Nach der ersten halben Stunde wird der Maus die zu untersuchende Substanz einverleibt, und zwar in allen Fällen durch subcutane Injektion. Dabei ist zu beachten, daß es von großer Wichtigkeit ist, eine möglichst lange und dünne Kanüle zu nehmen (Nr. 20—22), da sonst durch die bei der Injektion von größeren Dosen auftretende Spannung der Haut die injizierte Flüssigkeit leicht durch die Einstichstelle abfließen kann.

Forst benutzte zu seinen Untersuchungen immer sechs berußte Papierplatten, dehnte also seine Versuche auf drei Stunden aus. Eigene Versuche ergaben, daß nach zwei Stunden auch bei unbehandelten Mäusen Ermüdungserscheinungen auftraten. Wir benutzten daher nur vier Papierplatten für einen Versuch. Will man jedoch die Wirkungsdauer eines Präparates ermitteln, so ist es natürlich notwendig, eine größere Zahl von Platten zu benutzen, solange, bis eben das Aufhören der Wirkung des betreffenden Mittels zu erkennen ist, d. h. also, bis die spontane Beweglichkeit des Tieres wieder ihre normale Größe erreicht hat.

Wie Forst, so konnten auch wir feststellen, daß der spontane Bewegungsdrang der verschiedenen Mäuse Unterschiede aufweist. Ergab sich schon zu Beginn des Versuches eine zu geringe Lebendigkeit der Maus, so wurde der Versuch unterbrochen und eine andere Maus gewählt.

Neuerdings hat Forst noch eine zweite Methode zur Prüfung sedativer Einflüsse verschiedener Medikamente am Tierversuch bei den Verhandlungen der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft in Berlin im April 1938 beschrieben. Er zeigte dort eine Apparatur, die zur Aufzeichnung der gesamten Lauftätigkeit der Maus dient, die sich

[4] Druckrey: Ebenda, Bd. 180, S. 112 (1936).

[5] A. W. Forst: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 189, S. 288 (1938).

auf einer runden Blechscheibe von 25 cm Durchmesser unter einer Glasglocke vollkommen frei umherbewegen kann. Dieser Laufteller besitzt an seiner Unterseite im Mittelpunkt eine Hülse von 1 cm Durchmesser. Die Hülse ist auf einen Zapfen gestülpt, dessen oberes Ende kugelförmig gestaltet ist. Das Rotieren des Tellers ist durch eine einfache Haltevorrichtung verhindert. Je nach der Bewegung des Versuchstieres neigt sich der Teller in einem durch die Hülse begrenzten Bereiche nach verschiedenen Seiten. Unterhalb des Lauftellers ist ein kleinerer Teller aus Isolierstoff an der Hülse stabil befestigt, etwa 5 bis 6 cm vom oberen Teller entfernt. An der Peripherie des unteren Tellers sind in ringförmiger Anordnung mehrere Kontaktstellen angebracht, über die eine Metallkugel rollt. Diese berührt entsprechend der jeweiligen Neigungsänderung der Laufplatte mehr oder weniger Kontaktstellen beim Herumrollen und verursacht dadurch auch mehr oder weniger Kontaktschlüsse. Durch eine geeignete Anordnung ist das Entstehen von Kontaktfunken verhindert. Eine besondere elektromagnetische Registriervorrichtung markiert die Stromschlüsse am Kymographion. Sie ist so ausgebildet, daß jeder einzelne Stromschluß auch bei dichtester Aufeinanderfolge ablesbar bleibt.

Die Gesamtzahl der Stromschlüsse sowie ihre gleichmäßige oder ungleichmäßige Verteilung auf die Versuchszeit liefert ein Bild der wechselnden Lauftätigkeit der Tiere in den einzelnen Zeitabschnitten. Der Vergleich der Zahl der Kontaktschlüsse vom normalen Tier mit denen des behandelten Tieres gestattet, die Wirkungsunterschiede quantitativ auszudrücken.

Beide Methoden haben gemeinsam, daß sie die Spontanbewegung der Maus nur in sehr geringem Maße verhindern. Wir benutzten deshalb beide Methoden nebeneinander für unsere Versuche.

Pyramidon.

Es interessierte zunächst, einzelne bekannte Antineuralgica auf ihre sedative Wirkung zu prüfen. *Forst*[5], der über einige Versuche mit Antipyrin und Pyramidon berichtet, kam zu dem Ergebnis, daß beide Pyrazolonderivate bereits in sehr niedrigen Dosen eine Hemmung der motorischen Bewegungen herbeiführen. Zu den Versuchen mit Pyramidon stellten wir uns eine 0,4%ige Lösung her, von der dann bestimmte Mengen den Mäusen subcutan injiziert wurden. Während Forst bereits nach Verabfolgung von 0,0001 mg/g Maus Anzeichen von Beruhigung der Tiere bemerkte, war bei unseren Versuchen eine sedative Wirkung erst nach der subcutanen Injektion von 0,001 mg/g Maus festzustellen. Die Wirkung trat rasch nach 5 bis 10 Minuten ein. Eine sehr starke motorische Beruhigung der Maus wurde durch die Injektion der 10fach höheren Dosis (0,01 mg/g) erzielt.

Wurden höhere Dosen injiziert (0,08 mg/g), so trat zunächst eine deutliche Excitation der Mäuse auf, die erst nach 30 Minuten in Lähmung überging. Subcutane Gaben von 0,25 bis 0,3 mg Pyramidon pro Gramm Maus bewirkten leichte Krämpfe, die sich bald gaben. Doch waren die Bewegungen der Tiere nach diesen Gaben deutlich ataktisch.

Als letale Dosis für etwa 15 bis 18 g schwere Mäuse wurden 0,35 bis 0,4 mg/g Gewicht gefunden. Das gleiche Ergebnis erhielt *Führer*[6]. Verabfolgt man einer Maus die tödliche Dosis, so tritt nach 10 bis 15 Minuten Unruhe ein, die Schwanzhaltung ist S-förmig, ähnlich wie bei einer Morphinvergiftung. Bald darauf treten Krämpfe epileptiformen Charakters auf, die Atmung der Mäuse ist stark beschleunigt, und nach 30 bis 40 Minuten geht die Maus in einem Krampfanfall zugrunde. Der Tod wurde durch Atemlähmung verursacht, denn wurde kurz nach dem Verschwinden aller Lebenszeichen der Thorax geöffnet, so wurde regelmäßig das Herz noch leicht schlagend vorgefunden.

Antipyrin.

Weitere Versuche wurden mit Antipyrin vorgenommen. Wir stellten uns hierfür eine 0,6%ige Lösung des Antipyrins, das sich gut in Wasser löst, her, und injizierten hiervon die erforderlichen Mengen subcutan. Die geringste Dosis, bei der wir eine sedative Wirkung feststellen konnten, war 0,04 mg/g Maus. Höhere Dosen wirken stärker. Eine sehr starke motorische Beruhigung trat nach der subcutanen Injektion von 0,3 mg Antipyrin pro g Maus ein. Die Wirkung begann nach 10 Minuten und hielt etwa 3 Stunden an. Nach Injektion von 0,4 mg/g Körpergewicht zeigten die Mäuse bei Bewegungen starke Ataxie. Eine Excitation wie nach hohen Pyramidondosen wurde jedoch nicht beobachtet. Als kleinste krampfmachende Antipyrindosis wurden 0,6—0,8 mg/g Körpergewicht gefunden. Nach diesen Dosen traten etwa 15 Minuten nach der Injektion tetanische Krämpfe für etwa ½—1 Stunde auf. Die Tiere erholen sich verhältnismäßig rasch von der Vergiftung und machen nach 2 bis 4 Stunden einen völlig normalen Eindruck. Als letale Dosis sind bei subcutaner Injektion 1—1,2 mg/g Maus anzusehen. Es treten starke Krämpfe auf, die Maus ist dabei „steif wie ein Brett", und nach mehreren solchen Krampfattacken stirbt sie während eines Anfalls.

Melubrin.

Für die Versuche mit Melubrin wurde zunächst eine 0,3%ige Lösung des Melubrins in physiol. Kochsalzlösung hergestellt. Es stellte sich jedoch heraus, daß wir bei Verwendung dieser Lösung eine sehr große Flüssigkeitsmenge injizieren mußten, um eine sedative Wirkung zu erzielen. Wir benutzten daher später eine 3%ige Lösung. Die kleinste Melubrindosis, bei der wir eine sedative Wirkung feststellen konnten, war 0,2 mg/g Maus. Die subcutane Injektion von 0,6 mg/g bewirkte bereits eine sehr starke motorische Beruhigung. Der Eintritt der Wirkung geschieht rasch, und die Maus zeigt keinerlei Vergiftungserscheinungen, sondern sitzt meist ruhig an einer Stelle und hält die Augen geschlossen. Bei mehreren Versuchstieren konnten wir ein auffälliges Niesen bald nach der Injektion bemerken. Es verlor sich nach etwa 10 bis 15 Minuten wieder. Nach Gaben von 3,5 mg Melubrin pro g Maus zeigten die Versuchstiere bei Bewegungen einen

[6] Führer: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 166, S. 437 (1933).

ataktischen Gang. Krämpfe traten erst nach Dosen, die höher als 4 mg/g waren, auf. Eigenartig war hierbei, daß die Krampfanfälle stets mit größeren anfallsfreien Perioden abzuwechseln pflegten und sich über mehrere Stunden erstreckten. Die Tiere erholten sich dann wieder, doch trat nach spätestens 18 Stunden in fast allen Fällen der Exitus ein. Als tödliche Dosis sind 4,0—4,5 mg Melubrin pro g Körpergewicht anzusehen.

Schließlich wurden noch zwei neue Pyrazolonderivate, von denen das erste in dem Antineuralgicum „Temagin" (Beiersdorf) enthalten ist, in die Untersuchungen mit einbezogen. Das zweite, Methyl-Pyrazolon, hat bisher keine praktische Verwendung gefunden.

Brom-methyl-pyrazolon.

Es zeigte sich, daß Brom-methyl-pyrazolon nur sehr wenig wasserlöslich ist, so daß wir uns mit einer 0,05%igen Lösung begnügen mußten. Die Untersuchungen ergaben, daß Brom-methyl-pyrazolon bei subcutaner Injektion von 0,02 mg/g sedativ wirkt. Eine sehr starke motorische Beruhigung wurde bei den Mäusen durch die Injektion von 0,03—0,05 mg des Präparates pro g Gewicht erzielt. Höhere Dosen verursachten zunächst ein kurzes Excitationsstadium, danach trat dann für etwa 3 bis 4 Stunden Beruhigung bzw. Schlafneigung ein. Als kleinste krampfmachende Dosis bei subcutaner Injektion sind 0,08 mg/g anzusehen. Die Versuchstiere erholen sich von den Krämpfen im Laufe von 4 bis 6 Stunden völlig. Narkose wurde durch diese Dosen ebensowenig wie durch höhere erzielt. Die subcutane Injektion von 0,15 bis 0,2 mg Brom-methyl-pyrazolon pro g Körpergewicht führt rasch zu schweren Krämpfen, die nach 1 bis 2 Stunden mit dem Tode des Versuchstieres enden.

Methyl-pyrazolon.

Methyl-pyrazolon zeigte eine bessere Wasserlöslichkeit als Brom-methyl-pyrazolon, so daß es möglich war, eine 0,4%ige Lösung herzustellen. Die Versuche zeigten dann, daß die beruhigende Wirkung dieser Verbindung etwas schwächer ist als die des Brom-methyl-pyrazolon. Von etwa 0,05 mg/g Maus an wirkt Methyl-pyrazolon bei subcutaner Injektion motorisch beruhigend. Bei Injektion von 0,15 mg/g ist die beruhigende Wirkung sehr deutlich und hält etwa 2 Stunden an.

Als kleinste krampfmachende Gabe sind bei subcutaner Injektion 0,4 mg/g Körpergewicht anzusehen. Der Versuchstiere sind gleichzeitig stark benommen und nehmen Seitenlage ein. Bei höheren Dosen (0,6 mg/g) tritt ein narkotisches Stadium ein, in dem es in meist nur kurzen Abständen wiederholt zu schweren Krampfanfällen kommt. Das Stadium dauert etwa 6 bis 8 Stunden, danach tritt langsam Erholung der Versuchstiere ein. Die subcutane Injektion von 0,8mg/g Maus wirkt in allen Fällen tödlich. Der Tod, der nach etwa 30 bis 60 Minuten eintrat, scheint durch Atemlähmung bedingt zu sein.

Phenacetin.

Zum Vergleich wurden Versuche mit den Paramidophenolderivaten Lactophenin und Phenacetin vorgenommen. Lactophenin ist verhältnismäßig gut wasserlöslich, während Phenacetin sich schlecht in Wasser löst. Wir lösten daher Phenacetin zunächst in Alkohol und verdünnten diese Lösung dann mit Wasser bzw. physiol. Kochsalzlösung. Auf diese Weise gelang es uns, eine 0,13%ige Phenacetin-Lösung mit einem Alkoholgehalt von 5% herzustellen, die dann den Versuchstieren in geeigneten Mengen subcutan injiziert wurde. Die Beurteilung der Wirkung war natürlich durch den Alkoholgehalt, der sich je nach der Dosis sowohl im Sinne einer Excitation als auch im Sinne einer Narkose auswirken konnte, erschwert. Kontrollversuche mit 5- und 10%igen Alkohollösungen zeigten jedoch, daß die Wirkungen in dem Dosenbereich, der bei den Versuchen mit Phenacetin in Frage kommt, verhältnismäßig unbeträchtlich sind. So läßt 1,8 mg Alkohol pro g Maus noch keine Wirkung erkennen, während 4 mg Alkohol pro g Maus schon narkotisch wirken nach anfänglicher Excitation. Bei den Versuchen mit der oben geschilderten 0,13%igen Phenacetin-Lösung, deren Alkoholgehalt, wie erwähnt, 5% betrug, wurde als kleinste deutlich sedativ wirkende Phenacetinmenge eine Dosis von 0,015 mg/g Maus gefunden. Etwas höhere Dosen, z. B. 0,05 mg/g, wirkten vorübergehend leicht excitierend. Möglicherweise ist diese Wirkung auf den Alkoholgehalt dieser Lösung zu beziehen. Die mit der genannten Phenacetingabe verabfolgte Alkoholdosis betrug 1,5 mg/g Maus. Wurden 0,1 mg Phenacetin pro g Maus injiziert, so trat rasch Schlafneigung und nach Injektion von 0,25 mg/g (entsprechend 10 mg/g Alkohol) tiefe Narkose ein. Tödlich wirkte die subcutane Injektion von 0,35 mg Phenacetin + 13 mg/g Alkohol.

Lactophenin.

Zu den Versuchen mit Lactophenin, das sich verhältnismäßig leicht in Wasser löst, diente eine 0,3%ige Lösung, die den Versuchstieren in geeigneter Menge subcutan injiziert wurde. Es zeigte sich, daß bereits eine Dosis von 0,06 mg Lactophenin pro g Maus eine beruhigende Wirkung ausübt. Eine Excitation ließ sich nicht feststellen, die Maus war schon bald nach der Injektion auffällig schläfrig und bewegte sich nur sehr wenig. Anders wirkten etwas höhere Dosen. So trat nach Injektion von 0,1 mg/g zunächst ein kurz dauerndes Erregungsstadium ein. Nach Injektion von 0,3 mg Lactophenin pro g Maus trat rasch Narkose ein. Die Versuchstiere ertrugen Rückenlage, reagierten aber noch auf Schmerzreize. Wurden noch etwas höhere Dosen injiziert, so erzielten wir damit tiefe Narkose, in der die Tiere völlig reflexlos waren, doch erholten sich die Tiere nicht mehr. Die tödliche Dosis liegt nach unseren Versuchen zwischen 0,3 und 0,35 mg Lactophenin pro g Maus. Die Versuche lassen also eine starke sedative Wirkung des Lactophenins erkennen, jedoch ist die therapeutische Wirkungsbreite nicht so groß wie z. B. beim Pyramidon. Krämpfe

wurden sowohl beim Phenacetin wie auch beim Lactophenin nicht beobachtet.

Von den Derivaten der Salicylsäure wurden Natrium-salicylicum und Acidum acetylo-salicylicum auf sedative Wirkung untersucht.

Natrium salicylicum.

Das Natrium-salicylat wurde als 1%ige Lösung verwendet. Wurde 0,3 mg/g Maus injiziert, so trat kurz nach der Injektion eine Excitation auf. Die Maus bewegt sich lebhaft, und die Atmung ist stark beschleunigt. Wurden dagegen 0,1 mg pro g Maus injiziert, so traten keine Zeichen einer Excitation auf, sondern es kam im Gegenteil sehr schnell zu einer Beruhigung der Tiere, die 2 bis 3 Stunden anhielt. Die kleinste Dosis, nach der eine sedative Wirkung eintrat, war bei unseren Versuchen 0,07 mg Natrium-salic. pro g Maus. Besonders stark beruhigend wirkte die subcutane Injektion von 0,15 mg pro g Maus. Nach höheren Dosen, 0,7—1,0 mg Natrium-salic. pro g Maus, kam es dagegen stets zu einem kurz dauernden Excitationsstadium und bald darauf, im Verlauf von einer halben bis einer Stunde trat der Tod der Tiere, anscheinend durch Atemlähmung ein.

Acidum acetylo-salicylicum.

Zu den Versuchen mit Acid. acetylo-salic. wurde eine 0,4%ige Lösung mit einem Zusatz von 5% Alkohol benutzt. Es zeigte sich, daß eine deutliche Beruhigung nach der subcutanen Injektion von 0,08 mg pro g Maus eintrat. Dieser Wirkung ging jedoch stets ein kurzdauerndes Excitationsstadium (etwa 10 Minuten) vorauf. Etwas höhere Dosen, z. B. 0,15 mg pro g führten nur zur Excitation. Die Mäuse bewegten sich dabei vorzugsweise am Rande ihres Käfigs (Manegetrieb). Als kleinste krampfmachende Dosis ist 0,3 mg/g Maus anzusehen; die subcutane Injektion von 0,5 mg/g Maus wirkt in allen Fällen tödlich. Acid. acetylo-salicyl. ist mithin also giftiger als Natrium salicylicum und besitzt eine verhältnismäßig schwache sedative Wirkung.

Bromural.

Zum Vergleich wurden ferner einige Versuche mit Bromural (Bromisovalerianylharnstoff), das als leichtes Schlafmittel und Tagessedativum therapeutische Verwendung findet, angestellt. Zu den Versuchen diente eine 0,2%ige Lösung (in physiol. Kochsalzlösung). Bei subcutaner Injektion wirkte Bromural von 0,02 mg/g Maus an motorisch beruhigend. Nach 0,06 mg/g war die Beruhigung sehr deutlich. Die Wirkung trat in allen Versuchen rasch ein, und die Beruhigung hielt etwa 2 bis 3 Stunden an. Die subcutane Injektion von 0,15—0,16 mg Bromural pro g Maus bewirkte bereits leichte Narkose. Die Tiere reagierten zwar noch deutlich auf Schmerzreize, vermochten sich aber nicht mehr aus der Seitenlage aufzurichten. Tiefe Narkose mit völliger Reflexlosigkeit trat erst nach Injektion von 0,25 mg g Maus ein. Die tödlichen Dosen beginnen bei 0,3 mg Bromural pro g Maus.

Präparat	Kleinste sedativ wirksame Dosis mg/g	Besonders starke sedative Wirkung mg/g	Narkose mg/g	Kleinste krampfmachende Dosis mg/g	letale Dosis	Therapeut. Breite (letale Dosis: kleinste sedat. wirksame Dosis)
Pyramidon	0,001	0,04	—	0,25—0,3	0,35—0,4	350—400
Antipyrin	0,04	0,3	—	0,6—0,8	1,0—1,2	25—30
Melubrin	0,2	0,6	—	4,0	4,0—4,5	20
Brom-methyl-pyrazolon	0,02	0,03	—	0,08	0,15—0,2	7—10
Methyl-Pyrazolon .	0,05	0,14	0,6	0,4	0,8	16
Phenacetin	0,015	0,08	0,25	—	0,35	23
Lactophenin	0,06	0,1	0,3	—	0,30—0,35	5—6
Natrium-salicylicum	0,1	0,15	—	—	0,7—1,0	7—10
Acid.-acetylo-salicylic.	0,05	0,08	—	0,3	0,5	10
Bromural	0,02	0,06	0,25—0,3	—	0,30—0,35	15—17

Baldrian.

Unter den einheimischen Pflanzen spielt die Baldrianwurzel als Beruhigungsmittel eine große Rolle. Schon im klassischen Altertum war der Gebrauch des Baldrians bekannt und hat sich bis auf den heutigen Tag erhalten, trotz der Nachteile, die vor allem in dem für manche Patienten unangenehmen Geschmack liegen. Die wirksamen Bestandteile des Baldrians sind in einem ätherischen Öl enthalten (*H. Kionka*[7]). Sie scheinen jedoch leicht zersetzlich zu sein, worauf die unsichere Wirkung des Baldrianextraktes beruhen dürfte (*Kochmann*[8]). Das ätherische Baldrianöl setzt die Erregbarkeit des Hirns und Rückenmarks herab. Es enthält als die wirksamen Bestandteile Borneol und Borneolester der Isovaleriansäure, dem eine schwache narkotische Wirkung zukommt (*Meyer-Gottlieb*[9]).

Forst[5] konnte mit Baldriandispert in 1-, 2- und 3%iger Suspension in Dosen von 0,4 und 0,8 mg/g Maus eine eindeutige sedative Wirkung erzielen. Bei Steigerung der Dosis auf 1,2 mg/g war der lähmende Einfluß sichtbar abgeschwächt, bei hohen Dosen von 2,0 mg/g dagegen wieder sehr deutlich. Die kleinste Dosis, von der eine sichtbare Wirkung zu bemerken war, fand er als 0,4 mg/g Maus, was sich auch mit der von Druckrey ermittelten deckt. Kochmann konnte erst von 2 mg/g Maus aufwärts eine sedative Wirkung erkennen.

Wir prüften die Ergebnisse Forsts an einem anderen Baldrianpräparat, dem Recvalysat, nach. Zur Verfügung standen uns zwei verschiedene Chargen dieses Präparates, von denen die erste, die wir mit E 37 bezeichneten, aus dem Jahre 1937, die zweite, E 38, aus dem Jahre 1938 stammte. Es zeigten sich dabei einige Unterschiede in der

7 H. Kionka: Arch. f. exp. Pharmakodynamie, Bd. 13, S. 212, (1904).
8 Kochmann: Dtsche. Med. Wochenschr. 1904, S. 57.
9 Meyer-Gottlieb: Pharmakologie, S. 100.

Wirkung der beiden Präparate, die das von Kochmann Gesagte bestätigen. Bei E 38 konnten wir nach 0,5 mg/g Maus die erste sedative Wirkung sehen, während bei E 37 erst nach 1 mg/g eine Beruhigung eintrat. Wir konnten auch die Ergebnisse von Forst bestätigen, denn auch wir fanden, daß nach Erhöhung der Dosis auf z. B. 1 mg/g E 38 und 1,5 mg/g E 37 ein sehr starke Beruhigung und Schlafneigung eintraten.

Steigerten wir jedoch die Gaben auf 1,5 mg/g E 38 und 2 mg/g E 37, so war der lähmende Einfluß stark abgeschwächt. Nach Injektion dieser Mengen zeigten sich bei allen Versuchstieren Erregungserscheinungen. Die Mäuse waren außerordentlich lebhaft und sprangen unter der Glocke in die Höhe. Nach noch höheren Dosen der Präparate herrschte dann wieder die sedative Wirkung vor. Unsere Versuche stellen also eine vollkommene Bestätigung der Angaben von Forst dar.

Indischer Hanf (Cannabis indica).

Veranlassung zu folgenden Versuchen war die Frage, ob in dem in Deutschland gewachsenen indischen Hanf Stoffe enthalten sind, die eine narkotische Wirkung hervorrufen.

Der indische Hanf ist eine physiologische Varietät unserer Cannabis sativa, die sich durch eine viel reichere Ausbildung der Drüsenhaare und demgemäß auch einen höheren Harzgehalt auszeichnet. Nach O. Warburg[10] stammt der Hanf vermutlich aus dem nördlichen Zentralasien und ist von dort frühzeitig, vielleicht schon im 2. Jahrtausend vor Chr., durch die Wanderungen der Skythen nach dem östlichen Europa gelangt. In das Mittelmeergebiet drang diese Kulturpflanze nur langsam ein. Nach Herodot webten die Thracier bereits um 480 v. Chr. Kleider aus Hanf, doch war die Pflanze in Griechenland damals noch unbekannt. Die Römer erwähnten den Hanf erst um 100 v. Chr., doch fand sein Anbau dort bald stärkere Anwendung. Nicht nur die Verwendung der Bastfasern als Material für Seile, Taue usw. war den Römern bekannt, sondern auch schon die Heilmittelwirkung. Jetzt ist die Kultur der Hanfpflanze in Europa sehr weit verbreitet: Deutschland, Italien, Rußland, Polen sind Gebiete des Hanfbaues, doch wird er überall fast ausschließlich wegen seiner Fasern angebaut. Im Orient dagegen und in den tropischen Gegenden wird der Hanf mehr wegen seines Harzes angepflanzt, das ein sehr altes und von vielen Millionen genommenes Rauschgift, Haschisch, darstellt.

Der indische Hanf wird arzneilich in Substanz wenig oder gar nicht verwendet, dagegen findet er als alkoholischer Extrakt und als Tinktur Anwendung. In kleinen Dosen soll der indische Hanf anregend auf das Zentralnervensystem, in größeren dagegen als Hypnotikum wirken[11].

Nach Wasicky[12] wirkt Cannabis ind. auf das Zentralnervensystem

[10] O. Warburg: Die Pflanzenwelt, Bd. 1, S. 492.
[11] Real-Encyklopädie d. ges. Pharmacie, Bd. 3, S. 333.
[12] Wasicky: Physiopharmakognosie, S. 53.

als Narkotikum, doch bleiben die Reflexe sowie die aufrechte Körperhaltung und das Bewußtsein bis unmittelbar vor dem Tode erhalten. E. Poulsen[13] schreibt, daß der indische Hanf auf das Großhirn wirkt und einen Rausch erzeugt, der in zwei Hinsichten einen eigentümlichen Charakter hat: erstens ist die Phantasie zügelloser als bei jedem anderen Rausch, und dann hat der Berauschte selbst während der wildesten Ideenflucht und der stärksten Halluzinationen noch lange einen Rest von Bewußtsein. Er bewahrt eine dunkle Vorstellung davon, daß er sich nur in einem angenehmen Traumzustand befindet und kann bei einer Anrede einigermaßen vernünftig antworten.

Es sind verschiedene Stoffe aus dem indischen Hanf rein dargestellt worden, aber keiner von ihnen kann alle Symptome hervorrufen, die man beim Gebrauch der Pflanze in den Tropen beobachtet (Lewin[14]). Das Cannabin soll Schlaf erzeugen, Cannabinon, ein Weichharz, ruft motorische und psychische Willenslähmung, Halluzinationen, Schwindel und maniakalische Zustände hervor. Tetanokannabin soll strychninartige Krämpfe veranlassen und das Cannabindon unangenehme Halluzinationen. Fränkel hält sein Cannabinol ($C_{21}H_{30}O_2$) für die wirksame Substanz. Doch ist diese wohl kaum ein reiner Körper, enthält aber jedenfalls die pharmakologisch wirksame Substanz.

In den letzten Jahren sind verschiedene Versuche mit dem Anbau des Cannabis indica in Deutschland gemacht worden. Nach Straub[15] hat es sich gezeigt, daß diese hier kultivierte Pflanze dem persischen Haschisch, bezogen auf die wirksame Substanz, dem Rohharz, so gut wie gleichwertig ist. Es kann also nach den von Straub gemachten Versuchen derselbe Rausch erzeugt werden wie mit dem orientalischen Haschisch. Es soll jedoch nicht zu fürchten sein, daß sich in Europa die Haschischsucht verbreitet, da bei allen Versuchen mit innerlicher Applikation des Haschisch erst nach mehreren Stunden das Stadium des euphorischen Rausches einzutreten pflegt. Der Grund ist in der langsamen Resorption der in Wasser unlöslichen wirksamen Substanz zu suchen. Ferner steht seit Jahren in Deutschland der Anbau von Cannabis indica unter Handels- und Produktionskontrolle.

Für unsere Versuche dienten vier verschiedene Präparate, die mit den Buchstaben A, B, C und D bezeichnet wurden. Es handelt sich hierbei um den aus weiblichen Blüten gewonnenen Preßsaft (Präparat A), um einen alkoholischen Auszug aus männlichen Blüten (Präparat B), und einem zu verschiedenen Zeiten gewonnenen alkoholischen Auszuge aus weiblichen Blüten (Präparat C und D).

Bei der Untersuchung des Präparates A ergab sich, daß Verdünnungen mit physiol. Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 50, 1 : 25 und 1 : 10 in Mengen bis zu 1 ccm 16—20 g schweren Mäusen subkutan injiziert, nur eine sehr geringe und nicht immer zu reproduzierende beruhigende Wirkung ausübten. Wurde dagegen der unverdünnte

---

[13] E. Poulsen: Lehrbuch der Pharmakologie, S. 89.
[14] Lewin: Gifte und Vergiftungen, S. 865.
[15] Straub: Münchener Med. Wochenschr. 1928, Nr. 1.

Preßsaft in Mengen von 10—50 mg/g Maus subkutan gegeben, so war eine z. T. deutliche Beruhigung der Tiere festzustellen.

Eigenartigerweise war jedoch die Wirkung einer Dosis von 50 mg/g Maus oft nicht viel stärker als die von 10 mg/g. Die sedative Wirkung des Präparates A erwies sich mithin als recht gering.

Das Präparat B zeigte jedoch eine noch geringere sedative Wirkung. Lediglich der unverdünnte Auszug hatte bei subkutaner Injektion eine deutliche Beruhigung der Mäuse zur Folge.

Indessen störte der verhältnismäßig hohe Alkoholgehalt (60%) des Präparates die Versuche. Es erscheint denkbar, daß die beruhigende Wirkung des Präparates durch den darin befindlichen Alkohol verursacht wurde. Jedenfalls trat bei Injektion einer 60% Alkohol enthaltenden 0,9prozentigen Kochsalzlösung eine ähnliche starke Beruhigung der Mäuse wie nach entsprechenden Dosen des Präparates ein.

Eine etwas bessere Wirkung zeigte das Präparat C. Nach subkutaner Injektion von 8 mg/g Maus trat eine deutliche Beruhigung im Laufe von 10 Minuten ein.

Die Maus verharrte anfänglich minutenlang an einem Ort, lief dann wieder eine Strecke, um sich bald wieder niederzulassen und einzuschlafen. Dieser Zustand dauerte etwa 1 bis 2 Stunden, damit war dann in den meisten Fällen die Wirkung beendet. Sehr gut ließ sich die sedative Beeinflussung bei Gaben von 30 mg/g erkennen. Auch hier trat erst nach 10 bis 15 Minuten der Erfolg ein. Die Maus wurde ruhig und verfiel in einen leichten Schlaf, aus dem sie aber durch Klopfen an das Gefäß geweckt werden konnte. Die Atmung ließ keine besondere Beeinflussung erkennen, und die Bewegungen des Tieres beim Herumlaufen blieben ziemlich normal, waren jedoch mitunter etwas schleppend. Steigerten wir die Dosis auf 75 mg/g, so wurde der Gang der Maus nach etwa 20 Minuten ataktisch, es trat sodann eine stärkere Excitation auf, die nach weiteren 15 bis 20 Minuten nachließ. Etwa 1 bis 2 Stunden nach der Injektion wurde von der Maus Seiten- und Rückenlage ertragen, die Narkose war jedoch nicht so tief, daß vollkommener Sensibilitätsverlust herrschte. Nach 6 Stunden war in den meisten Fällen die Wirkung vorbei und die Maus so lebhaft wie zu Beginn. Wurde die Dosis noch mehr gesteigert, so trat bei 125 mg/g bis 165 mg/g der Exitus durch Atemlähmung innerhalb einer Stunde ein. Krampfzustände wurden niemals beobachtet — dieses Präparat läßt also eine deutliche sedative Wirkung bei der Maus erkennen. Indessen müssen doch verhältnismäßig hohe Dosen verabfolgt werden, damit eine Beruhigung der Versuchstiere eintritt.

Das Präparat D unterschied sich von C nur dadurch, daß die Blüten zu einem späteren Zeitpunkt geerntet worden waren. Das Präparat wirkte etwas stärker. Es stellte sich bereits nach Injektion von 2,5 mg/g bei der Maus eine leichte Beruhigung ein. Nach Verabfolgung von 5 mg/g war die Wirkung deutlich.

Ein Excitationsstadium wurde nicht beobachtet, der sedative Einfluß trat rasch ein und hielt 4 bis 5 Stunden lang an. Bei der dreifachen Dosis zeigte sich bei den Mäusen nach 5 Minuten ein starker

Bewegungsdrang. Vorwiegend bewegten sich die Tiere dabei an der Peripherie der Platte und zeigten somit den sogenannten Manegetrieb, den Forst bei verschiedenen Mitteln beobachtete. Erst nach 30 bis 40 Minuten legte sich diese Excitation und Schlafneigung trat ein. Bei Verabfolgung noch größerer Dosen (25 bis 40 mg/g) trat bei allen Versuchstieren Narkose ein, doch wurde eine Unempfindlichkeit gegen Schmerzreize nicht erzielt.

Tiefe Narkose erreichten wir nach Gaben von 60 bis 100 mg/g. Diese Dosen führten aber jedesmal nach 1 bis 2 Stunden zum Tode.

Bei einigen Versuchen an Kaninchen, bei denen in Urethannarkose Blutdruck (A. carotis) und Atmung fortlaufend registriert wurden, beobachteten wir nach subkutaner oder intramuskulärer Injektion unseres Hanfpräparates D regelmäßig eine Blutdrucksenkung. Dabei änderten sich Atemfrequenz und Pulsfrequenz nicht.

1. Kaninchen, 3 kg, 20 ccm Präparat D, subkutan.

Zeit:	normal	2′	3′	5′	10′	30′	60′	
Blutdruck in mm Hg	77	72	71	70	66	60	43	Innerhalb einer
Zahl der Atemzüge . .	87	90	88	86	87	89	89	Stunde keine
Pulszahl	215	215	210	192	205	210	212	weitere Änderung

2. Kaninchen, 2,8 kg, 20 ccm Präparat D, subkutan.

Zeit:	normal	1′	3′	5′	10′	30′	60′	
Blutdruck in mm Hg	80	79	77	76	75	71	63	Innerhalb von einer Stunde trat
Zahl der Atemzüge . .	72	70	72	72	72	72	72	keine weitere
Pulszahl	175	175	176	174	175	180	180	Wirkung ein

3. Kaninchen, 3,4 kg, 30 ccm Präparat D, subkutan.

Zeit:	normal	2′	4′	7′	15′	30′	45′	60′	
Blutdruck in mm Hg .	97	95	81	63	50	47	44	34	Innerhalb von einer Stunde
Zahl der Atemzüge . .	96	90	94	96	96	96	96	96	keine weitere
Pulszahl	210	202	186	188	198	204	207	210	Wirkung

Versuche am isolierten Kaninchenohr zeigten, daß das Hanfpräparat eine deutliche gefäßerweiternde Wirkung besitzt.

Tropfenzahl pro Minute.

Konzentrat.	normal	nach 1′	nach 3′	nach 5′	nach 10′	nach 15′
1 : 250 . . .	16	16	17	18	19	19
1 : 25 . . .	25	28	33	35	34	34
1 : 60 . . .	33	34	42	44	43	43

Auch am isolierten Kaninchendarm wurden einige Versuche mit dem Präparat D vorgenommen. Wir verwendeten dazu die von R. Magnus[16] beschriebene Apparatur, die in einigen Punkten verändert wurde. Vgl. Jensen[17]. Hierbei zeigte es sich, daß der Zusatz von 0,2 ccm D zu 300 ccm Nährflüssigkeit eine sehr geringe Tonussenkung herbeiführte. Eine Änderung der Peristaltik war hierbei nicht zu beobachten. Sehr deutlich war die Wirkung nach Zusatz von 1,0 des Präparates D zu 300 ccm der Tyrode-Lösung. Die Tonussenkung war

[16] R. Magnus: Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. 102, S. 123 (1904).
[17] Jensen: Dissertation Hamburg 1938.

hierbei sehr erheblich, gleichzeitig war eine geringe Zunahme der peristaltischen Bewegung, deren Höhe zunahm, zu beobachten. Die Kontraktionen zeigten trotz dauernden Sinkens des Tonus eine gute Regelmäßigkeit und Stärke.

Zusammenfassung.

Die verschiedenen tierexperimentellen Methoden, die zur Beurteilung sedativ wirksamer Mittel empfohlen worden sind, wurden kritisch besprochen.

Mit den kürzlich von A. W. Forst zur Messung sedativer Wirkung an der Maus empfohlenen beiden Methoden wurden zahlreiche Antineuralgica, sowie Bromural, Baldrian- und Hanfzubereitungen vergleichend untersucht. Hierbei erwiesen sich die beiden Methoden als sehr gut geeignet.

Bei diesen Untersuchungen fiel das mit steigender Dosis abwechselnde Überwiegen zentrallähmender oder -erregender Wirkung auf, sowie Sonderheiten in der Bewegungsart der Tiere, z. B. Manegetrieb, der durch verschiedene Pharmaka ausgelöst wird.

Zum Schluß möchte ich es nicht versäumen, Herrn Dozent Dr. H.-A. Oelkers für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit meinen ergebenen Dank auszusprechen.

LITERATURVERZEICHNIS.

1. *Schlaginweit:* Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 131, S. 212, 1928.
2. *Fromherz:* Ebenda, Bd. 121, S. 273, 1927.
3. *M. Kochmann* und *H. Kunz:* Ebenda, Bd. 181, S. 421, 1936.
4. *Druckrey:* Ebenda, Bd. 180, S. 112, 1936.
5. *A. W. Forst:* Ebenda, Bd. 189, S. 288, 1938.
6. *H. Fühner:* Ebenda, Bd. 166, S. 437, 1933.
7. *H. Kionka:* Arch. f. exp. Pharmakodynamie, Bd. 13, S. 215, 1904.
8. *Kochmann:* Deutsche Med. Wochenschr. 1904, S. 57.
9. *Meyer-Gottlieb:* Pharmakologie, S. 100.
10. *O. Warburg:* Die Pflanzenwelt, Bd. 1, S. 492.
11. Real-Enzyklopädie der ges. Pharmazie, Bd. 3, S. 333.
12. *Wasicky:* Physiopharmakognosie, S. 350.
13. *E. Poulsen:* Lehrbuch d. Pharmakologie, S. 89.
14. *Lewin:* Gifte und Vergiftungen, S. 865.
15. *Straub:* Münch. Med. Wochenschr. 1, 1928.
16. *R. Magnus:* Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. 102, S. 123, 1904.
17. *Jensen:* Dissertation. Hamburg 1938.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität
im Universitäts-Krankenhaus-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. Keeser

Der Nachweis sedativer Wirkung im Tierversuch

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Hansischen Universität
Hamburg

vorgelegt von

HANS HEINKEN
Zahnarzt

Hamburg 1938

1. Berichterstatter: Dozent Dr. Oelkers

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Keeser

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Hansischen Universität

Druck: A. Preilipper, Hamburg 11, Admiralitätstr. 16 / Fernruf 36 50 89

LEBENSLAUF.

Am 16. September 1913 wurde ich als Sohn des Kapitäns Johann Heinken in Delmenhorst i. O. geboren. Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich die Oberrealschule in Delmenhorst, die ich am 6. März 1933 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Im April 1933 begann ich in Würzburg das Studium der Zahnheilkunde und machte dort nach dem Sommersemester 1934 mein Physikum. Von April 1935 bis September 1935 diente ich im Arbeitsdienst und anschließend von November 1935 bis September 1936 bei der Wehrmacht in Oldenburg. Im Wintersemester 1936/37 nahm ich mein unterbrochenes Studium in Hamburg wieder auf, wo ich am 29. April 1938 die Approbation als Zahnarzt erhielt.

LEBENSLAUF.

Am 16. September 1913 wurde ich als Sohn des Kapitäns Johann Heinken in Delmenhorst i. O. geboren. Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich die Oberrealschule in Delmenhorst, die ich am 6. März 1933 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Im April 1933 begann ich in Würzburg das Studium der Zahnheilkunde und machte dort nach dem Sommersemester 1934 mein Physikum. Von April 1935 bis September 1935 diente ich im Arbeitsdienst und anschließend von November 1935 bis September 1936 bei der Wehrmacht in Oldenburg. Im Wintersemester 1936/37 nahm ich mein unterbrochenes Studium in Hamburg wieder auf, wo ich am 29. April 1938 die Approbation als Zahnarzt erhielt.